



TITLE:

The Phenotypic Landscape of a Tbc1d24 Mutant Mouse Includes Convulsive Seizures Resembling Human Early Infantile Epileptic Encephalopathy(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Tona, Risa

CITATION:

Tona, Risa. The Phenotypic Landscape of a Tbc1d24 Mutant Mouse Includes Convulsive Seizures Resembling Human Early Infantile Epileptic Encephalopathy. 京都大学, 2019, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2019-03-25

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k21664>

RIGHT:

許諾条件により本文は2020-01-02に公開; This is a pre-copyedited, author-produced version of an article accepted for publication in Human Molecular Genetics peer review. The version of record is available online.

京都大学	博士（医学）	氏 名	十名 理紗
論文題目	The Phenotypic Landscape of a <i>Tbc1d24</i> Mutant Mouse Includes Convulsive Seizures Resembling Human Early Infantile Epileptic Encephalopathy けいれん発作を伴う早期乳児てんかん性脳症のモデルとしての <i>Tbc1d24</i> 変異マウスの表現型の展望		
(論文内容の要旨)			
<p>先天性高度難聴の頻度は出生 1000 人に 1 人であり、70%が遺伝性難聴、そのうちの 30%が症候性難聴、70%が非症候性難聴である。症候性難聴の多くは稀な疾患であり、個々の病態の解明はほとんどされていない。ヒト <i>TBC1D24</i> 遺伝子は、遺伝子変異のローカスにより非症候性難聴、てんかん、難聴とてんかんを合併する全身疾患 (DOORS 症候群) を引き起こす。ヒトでは 559 個のアミノ酸をコードする 8 個のエクソンからなり、18 塩基で構成されるマイクロエクソンを含むアイソフォームとマイクロエクソンを含まないアイソフォームが同定されている。 <i>TBC1D24</i> 関連疾患の 1 つである早期乳児てんかん脳症(EIEE 16: Early Infantile Epileptic Encephalopathy 16)では、マイクロエクソン上にある 324 番目のセリンがスレオニンに置換されフレームシフト変異を起こし (ホモ接合体 S324Tfs*3 変異)、治療不応性のてんかん、精神発達遅滞、および乳幼児死亡をきたすことが報告されているが、その病態生理は解明されていない。その原因の一つがホモ接合体 <i>Tbc1d24</i> 変異マウスの胎生致死である。本研究では CRISPR/Cas9 ゲノム編集を用いて <i>Tbc1d24</i> S324Tfs*3 アレル特異的変異による EIEE16 疾患モデルマウスを作成し、病態の解析を行った。</p> <p>ホモ接合体 S324Tfs*3 マウスでは生後 15 日齢 (P15) より強直間代性けいれん発作を起こし、P21 までに致死し、ヒトの表現型と合致した。脳パラフィン切片の HE 染色および MRI では明らかな形態学的な異常は認めなかった。ホモ接合体マウスの聴力および内耳形態は正常であり、これもヒトでの報告例と合致した。一方、透過型電子顕微鏡所見では、TBC1D24 は海馬においてクラスリン被覆小胞およびシナプスに局在し、TBC1D24 が神経信号伝達のための小胞輸送に重要な役割を果たしていることが示唆された。ホモ接合体マウスが P15 以降にてんかん発作を起こすメカニズムを解明するために、RT-PCR を用いて脳の <i>Tbc1d24</i> mRNA のアイソフォームの発現量を評価した。野生型の脳では、P 1 以前はマイクロエクソンを含まないアイソフォームが主要であるのに対して P 7 以降ではマイクロエクソンを含むアイソフォームが主であった。<i>Tbc1d24</i> ホモ接合体 S324Tfs*3 マウスのてんかん発作および早期死亡は、この発達段階におけるアイソフォームスイッチに起因することが証明された。さらに、神経性のスプライシング因子をコードする <i>Srrm3</i> と <i>Srrm4</i> の変異マウスにおける <i>Tbc1d24</i> mRNA アイソフォームの発現量を調べた。<i>Srrm3</i> のホモ接合体変異では P16 の脳においてマイクロエクソンを含むアイソフォームの発現が亢進しており、SRRM3 の TBC1D24 のスプライシングへの関与が示唆された。一方、内耳では胎生期から成体マウスまで、マイクロエクソンを含まないアイソフォームも発現しており、ホモ接合体 S324Tfs*3 変異による内耳への影響はないことが確認された。</p>			

<p>本研究は <i>TBC1D24</i> 関連 EIEE16 の初めてのマウスモデルであり、抗けいれん薬のスクリーニング、スプライシングを阻害するアレル特異的オリゴヌクレオチドを用いた治療に貢献できると考えられる。今後、TBC1D24 に関与するタンパク質複合体の解析により、<i>TBC1D24</i> 関連疾患のさらなる病態解明が期待される。</p> <p>（論文審査の結果の要旨）</p> <p>症候性難聴の原因として 400 種類以上の症候群が同定されている。網膜色素変性症を伴う Usher 症候群や慢性腎炎を伴う Alport 症候群のように比較的高頻度の疾患もあるが、その多くは稀な疾患であり、個々の病態の解明はほとんどされていない。</p> <p>本研究では、非症候性難聴および症候性難聴の原因遺伝子の 1 つである <i>TBC1D24</i> に着目し、S324Tfs*3 アレル特異的変異による早期乳児てんかん性脳症（EIEE）疾患モデルマウスを作製し病態の解析を行った。ホモ接合体 S324Tfs*3 マウスは、ヒトでの EIEE の表現型と一致するてんかんを起こし、疾患モデルマウスとして有効であることを示した。さらに、透過型電子顕微鏡による海馬の所見から、TBC1D24 が神経信号伝達のための小胞輸送に重要な役割を果たしていることが示唆された。RT-PCR を用いた脳の <i>Tbc1d24</i> mRNA のアイソフォームの発現量の評価により、ホモ接合体 S324Tfs*3 マウスのけいれん発作が、発達段階の脳におけるアイソフォームスイッチに起因することを示した。</p> <p>以上の研究は、<i>Tbc1d24</i> S324Tfs*3 変異が EIEE の発病に関与していることを示したことから、TBC1D24 関連疾患の病態解明に貢献し、マウスを用いた抗けいれん薬のスクリーニングや、アレル特異的オリゴヌクレオチドを用いたヒトへの治療応用に寄与するものと考ええる。</p> <p>したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 31 年 2 月 25 日実施の論文内容とそれに関連した諮問を受け、合格と認められたものである。</p>			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			